ESTUDIO POBLACIONAL DE LAS ESPECIES DE ANFIBIOS DE INTÉRES DE MINERA PANAMÁ

BORRADOR

Preparado para:

Minera Panamá

Preparado por:

MWH

BUILDING A BETTER WORLD

Julio 2012

1. INTRODUCCIÓN

El estudio de Impacto ambiental (EsIA) del Proyecto Mina de Cobre Panamá, indica la presencia de 12 anfibios considerados como Especies de Interés (EDI) dentro de la futura área de explotación minera. La historia natural de algunas de estas 12 especies es bastante conocida, otras carecen de esta información; sin embargo, las características poblacionales de todas ellas son totalmente desconocidas, no existen trabajos documentados que indiquen la composición o estructura poblacional de las Especies de Interés de anfibios presentes en esta área del Donoso.

Debido a la carencia de información, Minera Panamá hace una convocatoria a MWH, para iniciar estudios poblacionales de dos Especies de Interés (EDI) de anfibios dentro de la huella del proyecto y también en varios puntos fuera de ella, para ser utilizados como datos comparativos o de control. Con los resultados obtenidos se inicia la línea base para la futura implementación de un plan de monitoreo para estas especies.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

- Ampliar la información sobre la distribución y el estado de las poblaciones de Especies de Interés del proyecto Mina de Cobre Panamá, dentro y fuera de la huella del proyecto, que permita conocer el estado de conservación de estas especies.

2.2. Objetivos específicos

- Obtener estimados poblacionales de dos Especies de Interés de Anfibios del Proyecto Mina de Cobre Panamá.
- Obtener una línea base de información para la implementación de un futuro plan de monitoreo de estas especies a mediano o largo plazo.

3. METODOLOGÍA

3.1. Selección de las especies de estudio

Para cada una de las doce EDIs de anfibios se valoraron seis criterios, dándole a cada uno de ellos una puntuación de 1 a 3; los criterios utilizados fueron: 1-el hábito (si es una especie terrestre o arborícola), 2-la actividad (si es diurna o nocturna), 3-la facilidad para ser observada, 4-si la especie está formalmente descrita (identidad confirmada), 5-su abundancia relativa (si es común, usual o inusual) y 6-su distribución en el área del Donoso. Al final se sumó el total de las valoraciones para cada especie y se escogió a las dos con el índice más alto como las mejores candidatas para realizar el estudio poblacional, las especies seleccionadas

BORRADOR

fueron: la rana *Dendrobates auratus*, con un puntaje de 18 y la rana *Atelopus varius,* con un puntaje de 16 (Ver Tabla 1).

Especie	Sustrato	Actividad	Facilidad de observar	Identidad confirmada	abundancia relativa	Distribución en Donoso	Puntaje
Atelopus varius	3	3	3	3	2	2	16
Craugastor evanesco	3	1	1	3	1	1	10
***Craugastor* sp1**	3	3	1	1	1	2	11
Dendrobates auratus	3	3	3	3	3	3	18
***Diasporus* sp1**	1	1	1	1	1	2	7
***Diasporus* sp2**	1	1	1	1	1	2	7
***Diasporus* sp3**	1	1	1	1	1	1	6
Gastrotheca cornuta	1	1	1	3	1	1	8
***Andinobates* sp1**	3	3	3	1	1	1	12
Oophaga vicentei	1	3	2	3	3	3	15
Phyllobates lugubris	3	3	1	3	2	3	15
Andinobates minuta	3	3	1	3	2	3	15
	Terrestre=3 Arborícola=1	**Diurna=3 Nocturna=1**	**Fácil=3 Regular=2 Difícil=1**	**Sí=3 No=1**	**Común=3 Usual=2 Inusual=1**	**Amplia=3 Localizada=2 Incierta=1**	

Tabla 1. Lista de Especies de Interés de Anfibios del Proyecto Mina de Cobre Panamá y criterios de selección de especies para este estudio.

Lips *et al*. (2001) recomienda el uso de especies del género *Atelopus*, si las hay en el área. Las especies de este género son susceptibles al decrecimiento debido a factores ambientales o patógenos. Tanto en el Área de Proyecto (ADP), como fuera de el, se reporta la presencia de la *Atelopus varius*, es una especie que está íntimamente relacionada (para su reproducción) a pequeñas quebradas de lecho rocoso o con grava, no muy profundas, de agua cristalina (poco sedimento) y que están cubiertas por vegetación (bosque ribereño).

Sin embargo cabe destacar que, aparentemente, no es una especie ampliamente distribuida en toda la región, precisamente por su preferencia de hábitat, muchas de las quebradas presentes

dentro y fuera del ADP son lodosas y no son utilizadas por esta especie para depositar sus huevos. Esta especie seleccionada, presenta características favorables para este tipo de estudio ya que sus colores son llamativos (por lo tanto son fáciles de observar y de cuantificar), además no son muy rápidas (son fáciles de capturar) y presentan dimorfismo sexual, todo esto facilita la obtención de datos como estado reproductivo, sexo y tamaño del ejemplar, como también el marcado de los individuos.

La *Atelopus varius* es una especie en Peligro Crítico (UICN, 2012 y ANAM, 2008) y endémica de Panamá y Costa Rica, las poblaciones de esta especie han desaparecido en las tierras altas en todo su rango de distribución desde Costa Rica a Panamá (UICN 2012), principalmente debido a la presencia de un hongo quitridiomiceto, el cual produce quitridiomicosis en los anfibios, infección a la cual son muy susceptibles las ranas del género *Atelopus*, las únicas poblaciones que se conoce existen para esta especie hoy en día, se localizan precisamente en algunos sistemas de quebradas de las tierras bajas del Caribe de Panamá, en el área del Donoso.

La rana venenosa verdi-negra (*Dendrobates auratus*) es una especie muy común en la mayoría de los sitios visitados por MWH en 2010, fuera del ADP y también reportada en el Estudio de Impacto Ambiental como abundante dentro del ADP. Aparentemente tiene densidades altas en el Donoso y habita en la hojarasca del suelo del bosque. La mayor parte de los dendrobátidos presentes en el área, aparentemente tienen altas densidades y son buenos candidatos para estudios de poblaciones (ver Tabla 1), pero *Dendrobates auratus* es el dendrobátido más conspicuo en el área por ser el de mayor tamaño (las otras especies son muy pequeñas) y sus manchas de color verde brillante son muy visibles a considerable distancia, además generalmente se encuentran en el suelo y no en los árboles como otras especies de dendrobátidos (*Oophaga vicentei,* por ejemplo) sin embargo, como todos los dendrobátidos, son muy ágiles , rápidos y esta especie no presentan dimorfismo sexual, por lo que no podemos distinguir el sexo.

A pesar de que UICN (2012) cataloga a *Dendrobates auratus* como una especie de Preocupación Menor (LC), ANAM (2008) la considera Vulnerable (VU) y CITES (2012) la tiene bajo su Apéndice II ya que es una especie comercializada internacionalmente como mascota.

3.2. Área de Estudio

Toda el área de estudio se encuentra en el Distrito del Donoso, en la vertiente del Caribe del oeste de la Provincia de Colón, entre los ríos Coclé del Norte y el Río Belén, con sitios de muestreo dentro de la huella del Proyecto Mina de Cobre Panamá y sitios localizados al Norte, Este y Oeste de la huella del proyecto (ver Figura 1).

BORRADOR

Figura 1. Mapa de Panamá, el recuadro indica el área de este estudio, localizada en el Distrito de Donoso en la Provincia de Colón.

3.3. Diseño del muestreo

El área de muestreo de dividió en 4 Zonas: Zona Este (ZE), Zona Norte (ZN), Zona Oeste (ZO) y Zona del Proyecto (ZP), ver Figura 2 2.

Para el estudio de *Dendrobates auratus* se delimitó parcelas en 24 sitios seleccionados al azar (dentro de las áreas con cobertura boscosa) y distribuidos entre las 4 áreas de muestreo de la siguiente manera: 6 parcelas en la Zona Este (ZE), 7 en la Zona Norte (ZN), 6 en la Zona Oeste (ZO) y 5 dentro de la Zona del Proyecto (ZP), ver Figura 2.

Para el estudio de *Atelopus varius*, se demarcó transectos en 12 sitios escogidos al azar (dentro de los sistemas de quebradas o arroyos con aguas claras, fondo rocoso o con grava y con cobertura boscosa), 3 por cada una de las 4 zonas de estudio, ver Figura 2.

BORRADOR

Figura 2. Mapa que señala las zonas en que se dividió este estudio y el sitio en donde se localizan las parcelas y los transectos dentro de cada Zona.

3.4. Métodos de Muestreo

3.4.1. Densidad Poblacional

Las técnicas de **marcaje y recaptura** suelen ser usadas para hacer varias estimaciones poblacionales. Se puede determinar la distribución de los individuos en una población, sus movimientos, tasas de crecimiento poblacional, tasas de fecundidad, mortalidad, natalidad, migración, etc. De esta forma, se puede observar y determinar la estructura y dinámica poblacional de las especies estudiadas.

Se utilizó la técnica de marcaje y recaptura aplicada a dos metodologías recomendadas por Lips *et al.* (2001) para determinar la densidad poblacional de las dos especies seleccionadas. A estas metodologías se les hizo modificaciones de acuerdo a la experiencia de personas que han monitoreado poblaciones de anfibios en Panamá (Roberto Ibáñez, com. personal). Una de las metodologías que se seleccionó permite estimar la densidad de población de especies como *Dendrobates auratus* que habitan en la hojarasca (Método de Parcelas) y la otra nos permite estimar lo mismo para especies como *Atelopus varius* que habitan márgenes acuáticos (Método de transectos para la Inspección por Encuentro Visual).

3.4.1.1. Método de Parcelas para cuantificar poblaciones de *Dendrobates auratus:*

En cada uno de los 24 sitios seleccionados se delimitó una parcela de 50 x 50 m, las cuales fueron georeferenciadas y muestreadas. Los datos obtenidos fueron utilizados para estimar la densidad de individuos de *Dendrobates auratus* (rana venenosa verdi-negra) que se encuentran en cada parcela; estos datos fueron necesarios para hacer un estimado del número de individuos de cada especie que habita en cada una de las 4 Zonas y estimar el total de individuos que habita en toda el área de estudio. En el Anexo 1 se muestra el cronograma de evaluación de las parcelas, que incluye código de las parcelas evaluadas, la Zona a la que pertenecen, la Temporada en que fueron evaluadas (Seca o Lluviosa),

BORRADOR

los días en que se visitaron estas parcelas y el responsable por parte de MWH de supervisar el trabajo en cada parcela.

Cada parcela fue visitada dos días durante la temporada seca y dos días durante la temporada lluviosa y fue recorrida por dos o tres observadores que caminaron paralelamente a lo ancho de la parcela en un área de 50x2 m cada uno hasta revisar cada m^2 de la parcela. Para cada temporada, el primer día era utilizado para delimitar y marcar la parcela y al mismo tiempo para capturar y marcar cada individuo observado, el segundo día se utilizó para registrar recapturas de los individuos marcados el primer día o para registrar individuos nuevos que no habían sido marcados el primer día, datos necesarios para hacer estimaciones poblacionales de esta especie, dentro de la parcela.

Durante la temporada seca, cada parcela fue visitada con un día de por medio. Pero para la temporada lluviosa se hizo un cambio a la metodología para bajar costos de operación, en la época lluviosa cada parcela fue visitada dos días seguidos, por lo que los observadores pernoctaron en el sitio y de esa manera se ahorró un viaje de ida y vuelta en helicóptero por parcela.

Los muestreos en las parcelas en la temporada Seca fueron realizados del 8 de febrero al 8 de mayo de 2011, mientras que para la temporada lluviosa se realizaron del 18 de junio al 29 de julio de 2011. En los muestreos de la Temporada Seca faltan datos para la parcela ZNP4, la cual por motivos de fuertes lluvias durante la primera visita, sólo pudo delimitarse la parcela, pero no se pudo hacer el muestreo, en la segunda visita se hizo el muestreo y marcado, pero no hubo oportunidad de realizar otra visita para registrar las recapturas, por lo que durante la Temporada Seca sólo pudo ser posible marcar los límites de esta parcela y muestrear un día, faltando datos de recaptura.

3.4.1.2. Transectos para la Inspección por Encuentro Visual (IEV) de *Atelopus varius:*

En cada uno de los 12 sitios seleccionados se marcó un transecto de 500 m a lo largo de la quebrada. En el primer día de trabajo (en cada sitio) se demarcó el transecto y simultáneamente se hizo el muestreo, marcando a todos los individuos observados. En la segunda visita a cada sitio se recorrió el transecto en búsqueda de individuos marcados (recapturas) y de individuos que no habían sido marcados el primer día.

Entre el 28 abril y 4 de mayo de 2011, se realizaron los muestreos en los transectos de quebrada correspondientes a la temporada seca; sin embargo luego de haber completado 11 de estos transectos ninguno registró la presencia de *Atelopus varius*. Estos resultados preliminares obligaron a cambiar

BORRADOR

inmediatamente la metodología, ya que la elección de los puntos al azar, no fue efectiva para estimar el número poblacional de esta especie.

Entre el 28 de abril y el 4 de mayo de 2011 se realizaron visitas exploratorias a los sitios en donde el estudio de impacto ambiental y las búsquedas de EDIs, realizadas previamente en años anteriores, indicaban la presencia de *Atelopus varius*. Estas vistas exploratorias confirmaron la presencia de la especie y en esos sitios se marcaron 4 nuevos transectos, los cuales fueron recorridos entre el 7 y 10 de junio, dos veces cada uno (día de por medio). Los transectos originalmente estaban programados para tener un recorrido de 500 m de largo a lo largo de la quebrada, pero en el caso de estos 4 transectos de *Atelopus* decidimos aprovechar al máximo la información y se decidió realizarlos con 1 km de largo.

Los muestreos en los 12 transectos de quebradas durante la temporada lluviosa y los 4 sitios adicionales evaluados para *A. varius*, fueron realizados entre 6 al 15 de noviembre del 2011 dentro de las 4 zonas de estudio.

En el Anexo 2, se muestra el cronograma de evaluación de los transectos, que incluye: código del transecto evaluado, la Zona a la que pertenecen, la Temporada en que fueron evaluadas (Seca o Lluviosa), los días en que se visitaron esos transectos y el responsable por parte de MWH de supervisar el trabajo en cada uno. Cada transecto de quebrada fue caracterizado registrándose información del nombre de sistema de quebrada, tipo de bosque, descripción de la topografía, descripción del cauce de la quebrada, ancho del transecto así como ubicación del tramo inicial y final de cada transecto.

BORRADOR

3.4.2. Marcado de los individuos

Para el marcado de individuos de las poblaciones de *Dendrobates auratus* y *Atelopus varius* se utilizó la técnica del corte de dedos o “toe clipping” (Woodbury, 1956) por su rapidez y bajo costo (Ferner, 2007). Utilizamos un código de marcado para identificar cada individuo de la forma como aparece en la Figura 3.

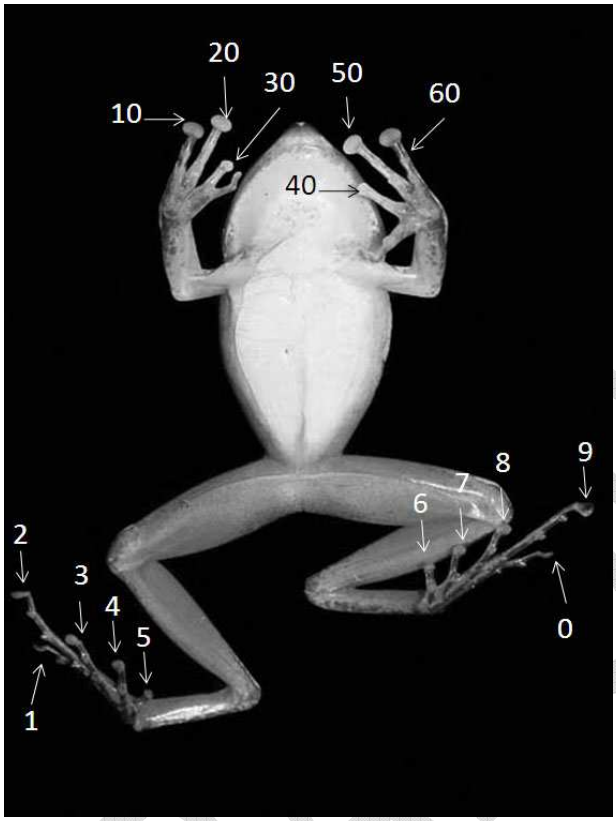

Figura 3. Código con el que se marcó numéricamente a las ranas en campo.

3.4.2.1. Protocolo para el marcado de animales:

- Esterilizar la tijera o el corta uñas.
- Poner al individuo ventralmente. Iniciar el marcado siempre de izquierda a derecha, iniciando con la pata inferior izquierda, luego la derecha.
- Continuar las decenas con los dedos de la mano y asociarlo con un dedo de las patas (excepto las decenas exactas: 10, 20, 30, etc; para las cuales, solo se corta un dedo).
- Nunca cortar el pulgar (los machos de las ranas lo utilizan en el amplexo durante su reproducción).
- Si se acaban las decenas, usar la unidad de miles, cortando tres dedos al animal, solo un dedo por extremidad (1040, 1041, 1042, etc.).
- Poner antibiótico a los dedos cortados y liberar al animal (luego de tomar todos los datos).
- Esterilizar la tijera o el corta uñas con etanol.

Después de que las marcas fueron hechas y cauterizadas, los animales fueron liberados cerca del punto de captura. Existen estudios que indican que el corte de dedos puede reducir la sobrevivencia (Clarke 1972; McCarthy & Parris 2004)

BORRADOR

y además pueden causar infección en la herida (Golay & Durrer 1994). A pesar de los posibles efectos negativos que esta técnica podría generar en los individuos marcados, cuando el procedimiento es realizado de manera apropiada los riesgos para la fauna son bajos (Ferner 2007, Phillott *et al*. 2007).

Existen distintas precauciones y recomendaciones que deben considerarse al momento de realizar el corte de dedos como técnica de marcado, tales como limpiar con un agente antiséptico la tijera quirúrgica de acero inoxidable. La tijera debe ser desinfectada antes de usar con cada individuo. Remover la menor porción posible de cada dígito cortado (idealmente entre falanges), evitando remover dígitos con alguna función ecológica conocida y tratar de no remover más de dos dígitos de un mismo miembro.

3.5. Análisis de los datos poblacionales

Para estimar el número de individuos de de las especies evaluadas dentro de parcelas o en transectos se utiliza generalmente, metodología de capturas-recapturas aplicados a poblaciones cerradas, principalmente el Estimador de Petersen-Lincoln (Chao y Huggins, 2005), el cual consiste en capturar muestras de animales de una población, marcarlos y liberarlos *in situ*, y al cabo de un tiempo otra muestra es colectada para observar la proporción de individuos marcados en la población total. De esta forma, el modelo está dado por la fórmula $N_p = n_1 n_2 / m_2$, en donde N_p es el estimado del tamaño de la población, n_1 corresponde al total de animales capturados el primer día (animales marcados y liberados en la población), n_2 el total de animales capturados el segundo día y m_2 el total de animales recapturados el segundo día (marcados en el primer día). Sin embargo, este estimador no funciona para parcelas sin recapturas, ya que indicaría que las poblaciones son infinitas.

Como en nuestro caso hay muchos muestreos sin recaptura y la cantidad de muestras es muy reducida, decidimos utilizar el estimador propuesto por Chapman (1951), basado en un modelo hipergeométrico (Chao y Huggins, 2005), que corrige estos sesgos y cuya fórmula es: $N_c = ((n_1+1)(n_2+1)/m_2+1) - 1$. Además, se calculó el intervalo de Confianza (CI) al 95% basado en el estimador de Chapman, de esta forma se obtuvieron los límites de confianza (Mínimo y Máximo) al 95% para este estimador. Cuando el valor mínimo fue menor que el número total de animales capturados (=n1+n2-m2), se reemplazó el límite mínimo por el número de animales capturados.

Considerando el mismo modelo, la Varianza (Var) para ambos estimadores (Petersen-Lincoln y Chapman) son muy similares y está dada por: $\text{Var}(N_c) \approx \text{Var}(N_p) \approx (n_1+1)(n_2+1)(n_1-m_2)(n_2-m_2)/(m_2+1)^2(m_2+2)$. Una vez obtenida la Varianza se calculó el Error Estándar (SE) que es la raíz cuadrada de la Varianza y se calculó el intervalo de confianza (CI) al 95% que equivale a $Np \pm 1.96 \times SE$.

En general, las condiciones de estos modelos son las siguientes:

BORRADOR

- La población será cerrada tanto geográfica como demográficamente.
- La probabilidad de captura a un animal es la misma para todos los individuos dentro de la población.
- La marca no afecta la probabilidad de captura del organismo.
- La marca debe ser permanente por lo menos durante los períodos de captura.
- Los muestreos deben ser aleatorios.

Para evaluar si existían diferencias significativas entre zonas y entre las temporadas de muestreo y si existía interacción entre estos, se analizaron los datos estadísticamente con el programa SYSTAT 11.

En relación a la estructura poblacional de estas especies, se realizó el registró de algunas variables como tamaño (longitud hocico-cloaca), sexo, estadio del animal y condición reproductiva de cada animal capturado en cada una de las parcelas o transectos evaluados por zona de estudio durante ambas temporadas de muestreo (no fue posible sexar a *Dendrobates auratus* ya que no tiene dimorfismo sexual). Adicionalmente se registró información de características del hábitat de los animales capturados tales como condición de la vegetación, condición del suelo, condición de la hojarasca y condición ambiental.

En base a los datos poblacionales, se realizaron histogramas para distribución de frecuencias de tallas de cada de una las especies evaluadas durante ambas temporadas, asimismo se realizó un análisis de Modelo Lineal Generalizado (datos normalizados) para evaluar diferencias significativas en tallas promedio entre zonas (además entre ríos para la especies evaluadas en transectos) y temporadas de estudio. Para el caso de la proporción sexual se aplicó la prueba estadística del Chi-Cuadrado (Sokal y Rolhf, 1995) para detectar diferencias significativas entre animales machos y hembras en cada una de las temporadas y zonas.

3.6. Estimación del tamaño de la muestra para futuros monitoreos

Los estimados obtenidos del número de individuos en las parcelas y en los transectos (N_c) también fueron utilizados en el cálculo del tamaño o número de muestras necesarias para estimar un promedio de la población o la población total con un determinado nivel de precisión (Elzinga *et al.* 2001). Para ello se utilizó la siguiente ecuación:

$$n = \frac{(Z_\alpha)^2 (s)^2}{(B)^2}$$

En donde: n= El tamaño estimado no corregido de la muestra; Z_α= El coeficiente estándar normal; s= la desviación estándar; B= El nivel de precisión deseado expresado como la mitad del ancho máximo del intervalo de confianza aceptable. Luego, se obtuvo n* que representa

BORRADOR

el valor del tamaño de la muestra corregido en base a una tabla de corrección del tamaño de muestra para estimados de un sólo parámetro.

3.7. Swab para detección del Bd

No es un compromiso del contrato con Minera Panamá, pero como un aporte adicional al estudio de poblaciones, se incluyeron algunos raspados (swab) de la piel de los anfibios encontrados, para detectar mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en tiempo real, la presencia del hongo quítrido *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd), patógeno que ha contribuido a la disminución e incluso pérdida de especies de anfibios en Panamá y en el mundo. Esta evaluación tan sólo constituye un sondeo a pequeña escala para tener una idea de la presencia o ausencia de este patógeno de anfibios en los lugares visitados, especialmente aquellos en donde habita *Atelopus varius*.

De esta forma, se aprovecharon las visitas a los sitios de parcelas y transectos para "swabear" los anfibios encontrados y luego por cortesía del Dr. Roberto Ibáñez del Instituto Smithsonian, analizar estas muestras a través de la técnica de PCR en tiempo real, para confirmar la presencia de este patógeno en el área.

Debe mencionarse que conocer la presencia de este patógeno en el área es vital para los futuros planes de reubicación de especímenes de un lugar a otro, durante el rescate de fauna del proyecto minero, y también debe ser considerado en el movimiento de personal de un lugar a otro dentro del área del proyecto, ya que tanto el movimiento de animales de un lugar a otro, como el desplazamiento de personal de un lado a otro, sin el debido cuidado, puede provocar la dispersión del patógeno a sitios que estaban libres de él.

4. RESULTADOS

4.1. Densidad poblacional

4.1.1. Parcelas para *Dendrobates auratus*

La Tabla 2, muestra los números de individuos de *Dendrobates auratus*, en las parcelas durante la Temporada Seca y Lluviosa, obtenidos en base al estimador de Chapman (N_c), la Tabla 2 también incluyen algunos estadísticos importantes.

BORRADOR

ID DATA		ESTACIÓN SECA										ESTACIÓN LLUVIOSA									
Zona	Parcela	n1	n2	m2	Nc	Var (Nc)	SE	95%CI	N obs	Min	Max	n1	n2	m2	Nc	Var (Nc)	SE	95%CI	N obs	Min	Max
ZE	ZEP2	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0
ZE	ZEP3	3	4	2	6	1.1	1.1	2.1	5.0	5	8	5	6	1	20	70.0	8.4	16.4	10.0	10	36
ZE	ZEP4	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0
ZE	ZEP5	1	2	1	2	0.0	0.0	0.0	2.0	2	2	1	0	0	1	0.0	0.0	0.0	1.0	1	1
ZE	ZEP9	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0
ZE	ZEP12	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0
ZN	ZNP2	5	15	0	95	3600.0	60.0	117.6	20.0	20	213	8	5	3	13	6.8	2.6	5.1	10.0	10	18
ZN	ZPP1	18	14	5	47	132.3	11.5	22.5	27.0	27	69	11	14	0	179	13860.0	117.7	230.7	25.0	25	410
ZN	ZNP3	2	1	0	5	6.0	2.4	4.8	3.0	3	10	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0
ZN	ZNP4											0	3	0	3	0.0	0.0	0.0	3.0	3	3
ZN	ZNP6	1	1	0	3	2.0	1.4	2.8	2.0	2	6	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0
ZN	ZNP8	4	3	0	19	120.0	11.0	21.5	7.0	7	40	1	6	0	13	42.0	6.5	12.7	7.0	7	26
ZN	ZNP11	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0
ZO	ZOP3	2	4	1	7	3.8	1.9	3.8	5.0	5	10	1	2	1	2	0.0	0.0	0.0	2.0	2	2
ZO	ZOP4	4	2	0	14	60.0	7.7	15.2	6.0	6	29	1	2	0	5	6.0	2.4	4.8	3.0	3	10
ZO	ZOP6	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0
ZO	ZOP7	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0
ZO	ZOP10	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0
ZO	ZOP11	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0
ZP	ZPP5	3	0	0	3	0.0	0.0	0.0	3.0	3	3	2	2	0	8	18.0	4.2	8.3	4.0	4	16
ZP	ZPP6	10	8	3	24	43.3	6.6	12.9	15.0	15	37	7	10	2	28	97.8	9.9	19.4	15.0	15	48
ZP	ZPP7	4	0	0	4	0.0	0.0	0.0	4.0	4	4	0	1	0	1	0.0	0.0	0.0	1.0	1	1
ZP	ZPP8	3	5	0	23	180.0	13.4	26.3	8.0	8	49	0	1	0	1	0.0	0.0	0.0	1.0	1	1
ZP	ZPP12	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0

Tabla 2. Estimado poblacional del *Dendrobates auratus* por parcelas y zonas de evaluación, durante las dos temporadas (seca y lluviosa).

Los resultados de la evaluación, indican que 10 de las 24 parcelas no registraron individuos para *Dendrobates auratus,* tanto en la temporada seca como en la lluviosa. Dos de las parcelas registraron 0 individuos en alguna de las temporadas de muestreo (seca o lluviosa).

Dos parcelas tuvieron un estimado alto en el número de individuos, ambas se encuentran en la Zona Norte. La parcela ZPP1, registró la mayor cantidad de individuos con valores estimados (N_c) de 47 y 179 individuos, para las temporadas seca y lluviosa, respectivamente. Esta parcela se caracteriza por la presencia de bosques altos, abundantes palmas y poco sotobosque. Para la parcela ZNP2, se estimó una cantidad de individuos de 95 para la época seca y 13 en la lluviosa.

En la Zona del Proyecto los estimados poblacionales variaron de 0 a 28 individuos, siendo la parcela ZPP6, la que presentó un mayor estimado del tamaño poblacional, con un rango entre 24 (seca) a 28 (lluviosa) individuos. Esta parcela también se caracterizó por la presencia de bosques altos y abundantes palmas.

BORRADOR

La zona Oeste presentó el mayor número de sitios de muestreo con 0 registros de individuos de *Dendrobates auratus*, para 4 de las 6 parcelas de esta zona, no se registró la especie.

Comparando ambas temporadas, generalmente las parcelas evaluadas en la época seca que tuvieron estimados poblacionales altos, mantuvieron también valores altos durante la época lluviosa. Se observaron también valores ligeramente mayores de tamaño poblacional en la temporada seca, en comparación con la temporada lluviosa. Asimismo se observa una mayor densidad y tamaño poblacional en promedio en la Zona Norte, mientras que la Zona Oeste presentó los menores registros de estos parámetros poblacionales.

Sin embargo, estadísticamente, el número estimado de individuos (N_c) no fue significativamente diferente entre las distintas zonas muestreadas en la estación seca, ni tampoco en la estación lluviosa (Análisis de una vía Kruskal-Wallis, estadístico de prueba Kruskal-Wallis = 6.243 y 3.042, respectivamente, P>0.05 en ambos).

En cada una de las zonas: Zona Este, Zona Norte, Zona Oeste y Zona del Proyecto, no se encontraron diferencias significativas en el número estimado de individuos (N_c) entre la estación seca y lluviosa (Análisis de dos vías Friedman, estadístico de prueba Friedman =0.000, 1.800, 2.000 y 0.000 respectivamente, P>0.05 en todas).

Por lo anteriormente mencionado, como era de esperarse, el análisis en conjunto de todas las parcelas en el área de estudio tampoco mostró diferencias significativas en el número estimado de individuos (N_c) entre la estación seca y lluviosa (Prueba Sign, 4+ y 9-, P>0.05).

4.1.2. Transectos para *Atelopus varius*

La Tabla 3 muestra los números obtenidos de individuos de *Atelopus varius*, para los transectos durante la Temporada Seca y Temporada Lluviosa, obtenidos en base a el estimador poblacional de Chapman (Nc), la Tabla 3 también incluye algunos estadísticos importantes.

ID DATA		ESTACIÓN SECA										ESTACIÓN LLUVIOSA									
Transecto	Cuenca	n1	n2	m2	Nc	Var (Nc)	SE	95%CI	N obs	Min	Max	n1	n2	m2	Nc	Var (Nc)	SE	95%CI	N obs	Min	Max
T1	Río San Lucas	4	8	0	44	720.0	26.8	52.6	12.0	12	97	7	7	0	63	1568.0	39.6	77.6	14.0	14	141
T2	Río San Lucas	3	5	0	23	180.0	13.4	26.3	8.0	8	49	2	0	0	2	0.0	0.0	0.0	2.0	2	2
T3	Río Belencillo	1	3	0	7	12.0	3.5	6.8	4.0	4	14	2	6	1	10	8.8	3.0	5.8	7.0	7	15
T4	Río Petaquilla	0	4	0	4	0.0	0.0	0.0	4.0	4	4	1	0	0	1	0.0	0.0	0.0	1.0	1	1

Tabla 3. Estimado poblacional del *Atelopus varius* para los cuatro transectos de 1000 m de largo, durante las dos temporadas (seca y lluviosa).

BORRADOR

Como ya fue comentado en la metodología, en ninguno de los 12 transectos escogidos aleatoriamente para estimar las poblaciones de *Atelopus varius*, se observó la presencia de esta especie, por lo que se decidió realizar 4 transectos adicionales de 1000 metros de largo (los iniciales eran de 500 m) en los únicos 4 sitios donde previamente se conocía la presencia de la especie.

En el transecto T1, ubicado en la cuenca del río San Lucas en la Zona Este, se registró el mayor estimado de tamaño poblacional (N_c), con valor estimado de 44 individuos para la temporada seca y 63 individuos para la lluviosa. Esta localidad corresponde a una quebrada caracterizada por presentar un bosque primario con algunos claros, producto de la tala en los primeros 100 m del transecto, con pendiente suave, así como caracterizado por un cauce rocoso, con briofitos sobre las piedras, pequeñas palmas y helechos sobre las piedras. Adicionalmente en la parcela T2, ubicada en esta misma cuenca, se estimó una población importante de 23 individuos en la época seca y 2 en la lluviosa. Cabe destacar que estos sitios se encuentran muy cerca de la desembocadura del Río San Lucas en el Río Coclé del Norte, muy próximo al pueblo de San Lucas y los bosques están muy alterados, hay mucha tala y áreas de cultivo. Además en estas quebradas hay indicios claros de que son utilizadas para extracción artesanal de oro, lo cual en cierto modo, altera las condiciones de la quebrada y podrían afectar los sitios reproductivos de *Atelopus varius*.

Los otros sitios presentaron un estimado poblacional más bajo, T3 ubicado en la cuenca del Río Belencillo en la Zona Oeste, presentó un estimado de 7 individuos para la temporada seca y de 10 individuos para la lluviosa. Esta quebrada se caracteriza por estar dentro de un bosque primario y una quebrada con suelo arenoso y piedras grandes. El transecto T4, ubicado en el río Petaquilla dentro de la Zona del Proyecto, se logró estimar un número de 4 individuos durante la temporada seca y de un solo individuo en la lluviosa, este transecto se encuentra también dentro de un bosque primario y el cauce de la quebrada es arenoso con piedras que sobresalen de la superficie del agua.

El análisis en conjunto de todos los transectos en el área de estudio no mostró diferencias significativas en el número estimado de individuos (Nc) entre la estación seca y lluviosa (Prueba Sign, 2+ y 2-, $P>0.05$).

Según lo estimado las poblaciones más grandes de *A. varius* estarían ubicadas en el río San Lucas, asociados a un hábitat constituido de bosque primario (aunque ya hay muestra de alteración) mientras que en el resto de las cuencas, la densidad de esta especie es poco representativa. En la cuenca del río Caimito (ríos Rinconcito, Uvero y Hoja) no se encontraron ejemplares de esta rana durante ambas temporadas.

4.2. Tamaño de las poblaciones

BORRADOR

Se estimó el tamaño total de las poblaciones de *Dendrobates auratus*, en toda el área de estudio, utilizando los promedios de los estimados de los números de individuos por zonas (N_c) durante la temporada seca y lluviosa. Con ese número, estimamos el tamaño o el número de individuos que ocupa cada Km^2 de la zona de estudio en ambas temporadas.

Para *Atelopus varius*, se obtuvo el resultado del estimado de la población que ocupa cada Km de largo de quebrada en las quebradas donde se encuentra esta especie, pero no tenemos el largo total de las quebradas donde habita *Atelopus varius*, una vez tengamos esta cifra podremos calcular el tamaño de la población de esta especie para al menos los sitios en donde sabemos que habita.

4.2.1. Tamaño poblacional de *Dendrobates auratus*

Para *Dendrobates auratus*, tenemos que en los 616 km^2 de área de estudio (el total de km^2 comprendidos por ZE, ZN, ZO y ZP) debe haber, en promedio, cerca de 2,681,311 individuos durante la temporada seca (1,160,133 y 5,117,260; rangos promedio mínimo y máximo respectivamente) y se estima que debe haber, en promedio, cerca de 2,585,733 durante la temporada lluviosa (818,987 y 5,331,776; rangos promedio mínimo y máximo respectivamente).

Con esos valores calculamos que por cada Km^2 de la zona de estudio debe haber un promedio de 4,353 individuos (1,883 y 8,307; rangos promedio mínimo y máximo respectivamente) durante la temporada seca; y un promedio de 4,198 individuos (1,330 y 8,655; rangos promedio mínimo y máximo respectivamente) durante la temporada lluviosa.

4.2.2. Tamaño Poblacional de *Atelopus varius*

Como se mencionó en la metodología, los transectos finales de *Atelopus varius* no fueron escogidos aleatoriamente sino que se realizaron en sitios donde previamente se conocía la presencia de la especie. Eso lo hicimos ya que en los 12 transectos escogidos aleatoriamente, en un inicio, no se reportó la presencia de esta especie. Aparentemente *Atelopus varius* no está distribuido homogéneamente en el área de estudio y sólo se encuentra en muy pocas quebradas del área.

Por esta razón sólo fueron muestreados 4 transectos para esta especie, dos en la cuenca del río San Lucas, uno en Río Belencillo y otro en Río Petaquilla, los 4 de 1 Km de largo.

Nuestros datos indican que se estima en 20 la cantidad promedio de individuos que habitan a lo largo de 1 Km de quebrada en dónde se conoce la presencia de *Atelopus varius* (7 y 41; valor promedio mínimo y máximo) durante la temporada seca. Para la temporada lluviosa no es mucha la diferencia ya que se estima en 19 la cantidad promedio de individuos que habitan a lo largo de 1 Km de quebrada en dónde se conoce la presencia de *Atelopus varius* (6 y 40; valor promedio mínimo y máximo). Al carecer en este momento de los datos del largo total de quebradas hábiles para *Atelopus varius*, no hemos calculado el total de individuos que habita en la zona de estudio.

BORRADOR

4.3. Estimado del tamaño de la muestra o número de transectos y parcelas requeridos.

Se estimó la cantidad de muestras mínimas necesarias (n) y la cantidad de muestras mínimas necesarias corregida a 90% de nivel de confianza (n*), para la estación seca y la lluviosa, de cada especie, utilizando la ecuación suministrada en la metodología (Sección 3.6.).

Los resultados para cada especie se encuentran en la Tabla 4. Estos resultados nos sugieren que siguiendo la misma metodología que utilizamos, se requiere una cantidad mayor de muestras para las parcelas de *Dendrobates auratus*, mientras que para los transectos de *Atelopus varius,* aunque son números también elevados, son mucho menores.

Especie	Nivel de confianza (%)	Z_{α}	Ancho del intervalo de confianza (%)	Estacion Seca					Estacion Lluviosa				
				N	Promedio del número estimado de individuos	s (desviación estándar)	n	n* (90% nivel de confianza)	N	Promedio del número estimado de individuos	s (desviación estándar)	n	n* (90% nivel de confianza)
D. auratus	95	1.96	20	23	11	21.6	374	>>374	24	11	36.4	978	>>978
A. varius	95	1.96	20	4	20	18.3	85	103	4	19	29.6	233	>>233

Tabla 4. Estimado del número de parcelas y transectos requeridos para optimizar los resultados.

4.4 Estructura poblacional

4.4.1 Parcelas de *Dendrobates auratus*

Durante la temporada seca se registraron los parámetros poblacionales de *D. auratus* para un total de 106 animales capturados, con 58 individuos correspondientes a la Zona Norte, 30 para la Zona del Proyecto, 11 para la Zona Oeste y 7 ejemplares para la Zona Este. La estructura de tallas de *D. auratus* durante esta temporada mostró una distribución unimodal, con una mayor frecuencia en el rango 3.2-3.6 cm (43.4%), siendo la moda 3.5 cm (Figura 4). Dentro de los estadíos, la forma adulta fue la predominante con un 84%. Sin embargo, las parcelas ZOP3, ZPP1 y ZPP6 muestran una proporción significativa de juveniles en su estructura (Ver Tabla 5).

En la temporada lluviosa se tomaron registros poblacionales para un total de 79 animales capturados, distribuidos en 45 para la Zona Norte, 18 para la Zona del Proyecto, 11 para la Zona Este y 5 para la Zona Oeste. La estructura de tallas de *D. auratus* durante esta temporada mostró una distribución unimodal, con una mayor frecuencia en el rango 3.6-4.0 cm (39.2%), siendo la moda 3.7 cm (Figura 5). Dentro de los estadíos, la forma adulta fue la predominante con un 79.7%. Sin embargo, las parcelas ZOP3, ZNP2 y ZPP6 muestran una proporción significativa de juveniles en su estructura (Ver Tabla 5).

BORRADOR

No se han encontrado diferencias significativas entre las tallas promedio, tanto entre zonas de estudio como entre las temporadas de evaluación (p>0.05, p=0.058 y p=0.618).

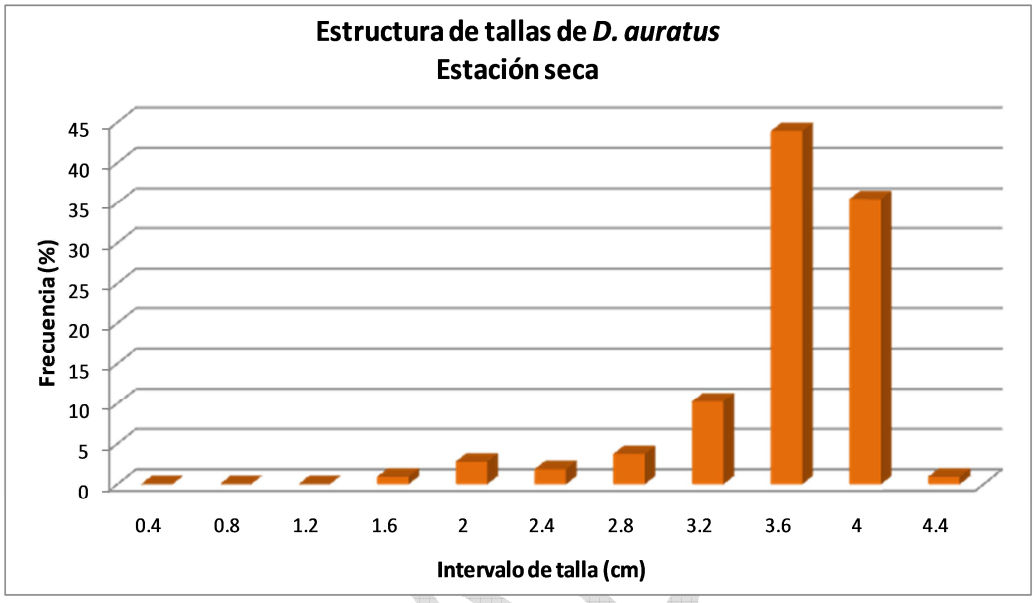

Figura 4. Estructura de tallas de *D. auratus* durante la temporada seca

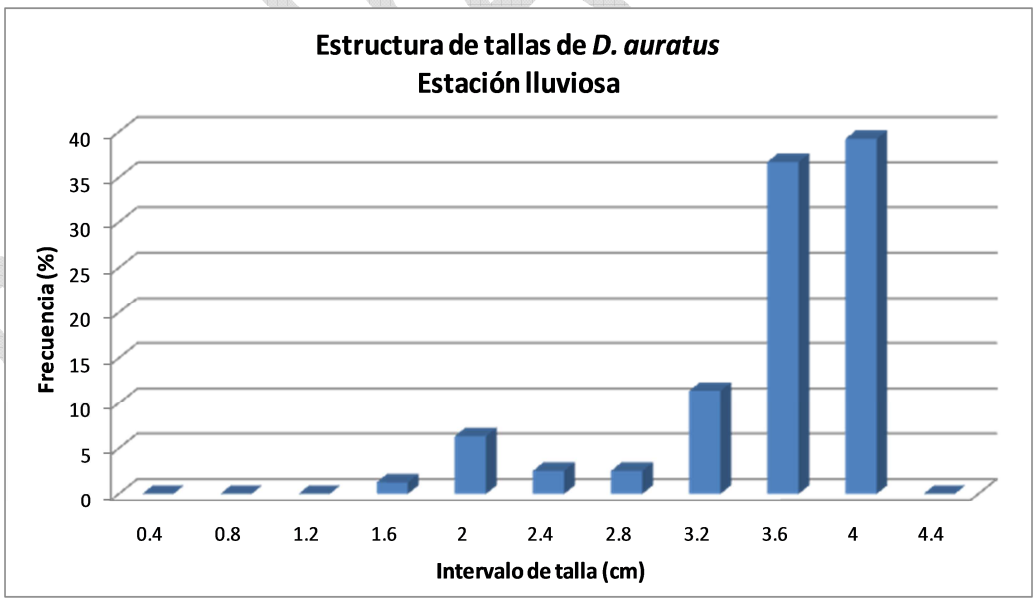

Figura 5. Estructura de tallas de *D. auratus* durante la temporada lluviosa

Estadío	Seca	Lluviosa
A (%)	84.0	79.7
SA (%)	4.7	0.0
J (%)	11.3	20.3
Total	100	100

Tabla 5. Estadios de la población de *Dendrobates auratus* durante la temporada seca y lluviosa

4.4.2 Transectos de *Atelopus varius*

Durante la temporada seca se registraron los parámetros poblacionales de *A. varius* para un total de 28 animales capturados, 20 individuos correspondientes a la cuenca del Río San Lucas, 4 para la cuenca del Río Petaquilla y 4 para la cuenca del Río Belencillo. La estructura de tallas de *A. varius* durante esta temporada mostró una distribución bimodal (juveniles y adultos), con una mayor frecuencia en los rangos 1.2-1.6 cm y 2.8-3.2 cm, ambos con 21.4%, siendo la moda 3 cm (Figura 6). Dentro de los estadíos, la forma juvenil y adulta presentaron la misma proporción en la población (48%), mientras que la proporción de individuos machos fue significativamente mayor que las hembras ($p < 0.05$, $X^2=13.4$). A nivel de cuencas, el río San Lucas presentó una proporción similar de animales adultos y juveniles, mientras que los ríos Belencillo y Petaquilla muestran un predominio de juveniles (Tabla 6).

Mientras que durante la temporada lluviosa se tomaron registros poblacionales para un total de 25 animales capturados, 16 individuos correspondientes a la cuenca del Río San Lucas, 7 para la cuenca del Río Belencillo y 1 para la cuenca del Río Petaquilla. La estructura de tallas de *A. varius* durante esta temporada mostró una distribución unimodal, con una mayor frecuencia en los rangos 2.4-2.8 cm y 2.8-3.2 cm, ambos con 40%, siendo la moda 2.9 cm (Figura 7). Dentro de los estadíos, la forma adulta fue la predominante con un 88%. En relación a la proporción sexual, predominan en forma significativa los individuos machos en relación a las hembras ($p < 0.05$, $X^2=14.4$). A nivel de cuencas, los ríos San Lucas, Belencillo y Petaquilla presentaron un predominio de ejemplares adultos en su estructura poblacional.

BORRADOR

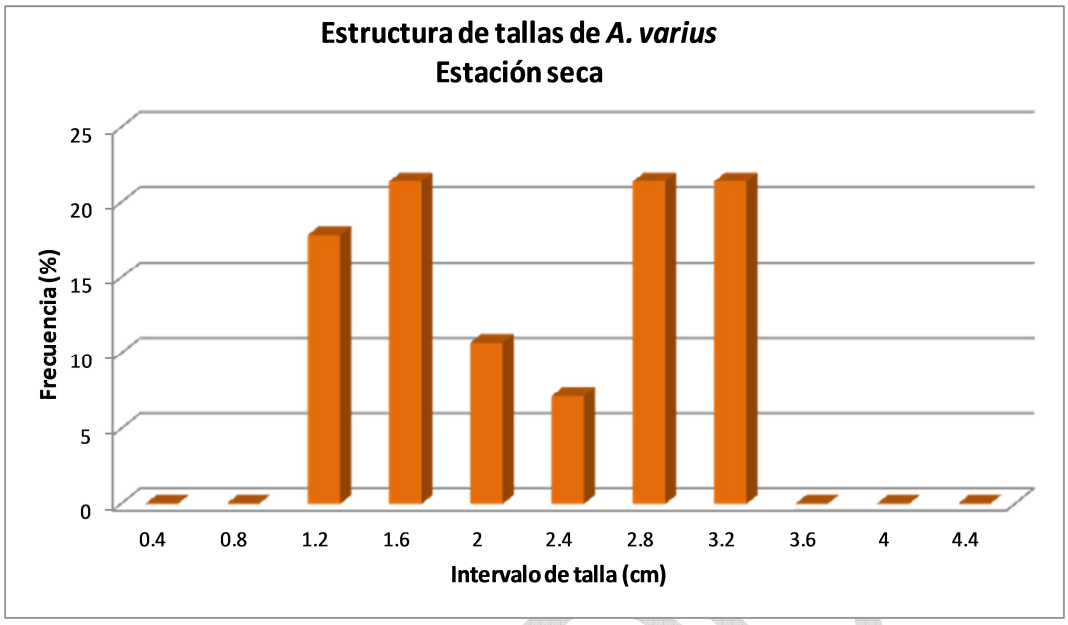

Figura 6. Estructura de tallas de *A. varius* durante la temporada seca

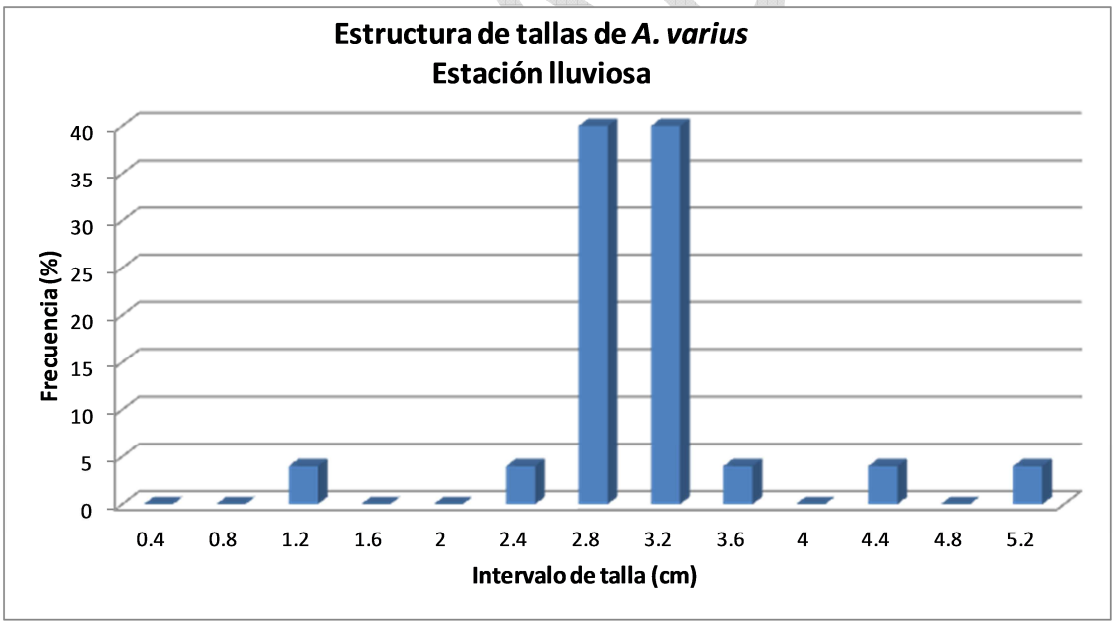

Figura 7. Estructura de tallas de *A. varius* durante la temporada lluviosa

Estadío	Seca	Lluviosa
A (%)	48.1	88.0
SA (%)	3.7	8.0
J (%)	48.1	4.0
Total	100	100

Tabla 6. Estadios de la población de *Atelopus varius* durante la temporada seca y lluviosa

4.5 Swab para detección de *Bd*

Realizamos un total de 45 swab (o raspados de piel) a diversos anfibios encontrados (principalmente *Atelopus varius*), de los cuales seis dieron positivo a través de la Técnica de PCR en tiempo real, para la detección del *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) y 39 negativas, dando una prevalencia de infección por *Bd* de 13 % en las muestras.

De las 6 muestras positivas, 5 correspondían a *Atelopus varius*, todas en una quebrada del Río San Lucas, cerca al poblado de San Lucas en el Río Coclé del Norte. La otra muestra positiva era de una *Oophaga vicentei* en la parcela de la Zona Norte (ZNP11) entre Río Rinconcito y Río Uvero.

Como mencionamos anteriormente, la mayor parte de los swabs colectados por nosotros, fueron hechos en su mayoría a especímenes de *Atelopus varius*, ya que nos interesaba saber realmente que estaba ocurriendo con esta especie y el *Bd*, encontrando que de 30 swabs realizados a individuos de esta especie 5 estaban infectados, dando una prevalencia de 17% de infección para la especie. Sin embargo todos los positivos de *Atelopus varius* registrados hasta el momento por nosotros son de un sólo sitio, cercano al Río San Lucas, en la Zona Este, de nuestra área de estudio. El otro positivo era una *Oophaga vicentei*, la cual se encontró a 15 km al oeste de los ejemplares del Río San Lucas.

En la Tabla 7 se detallan los datos de todos los animales a los cuales se les hizo swab, el resultado para la infección con *Bd* y las coordenadas en UTM-WGS84 donde fueron registradas estas ranas y en el mapa de la Figura 8 se señalan los dos puntos dónde se encontraron muestras positivas para *Bd*.

BORRADOR

Especie	ID Tubo	Bd	Colector	Fecha	Hora	Easting	Northing
Rhinella alata	ZN-001	Negativo	César Jaramillo	9 febrero 2011	10:35 AM	535026	986654
Oophaga vicentei	ZN-002	Positivo	César Jaramillo	9 febrero 2011	11:20 AM	535026	986654
Ranitomeya minuta	CR14-005	Negativo	César Jaramillo	11 febrero 2011	11:31 AM	535026	986654
Rhinella alata	CR14-004	Negativo	César Jaramillo	11 febrero 2011	11:14 AM	535026	986654
Oophaga vicentei	CR14-003	Negativo	César Jaramillo	11 febrero 2011		535026	986654
Atelopus varius	AS003	Negativo	Angel Sosa	26 mayo 2011	10:30 AM	547680	993125
Atelopus varius	AS004	Negativo	Angel Sosa	26 mayo 2011	10:40 AM	547669	993118
Atelopus varius	6	Negativo	Marcos Ponce	25 mayo 2011	1:40 PM	534577	974300
Atelopus varius	AS002	Negativo	Angel Sosa	26 mayo 2011	10:20 AM	547680	993125
Atelopus varius	5	Positivo	Marcos Ponce	26 mayo 2011	11:15 AM	546532	994811
Espadarana prosoblepon	A007	Negativo	Angel Sosa	27 mayo 2011	8:37 AM	546513	994606
Incilius coniferus	4	Negativo	Marcos Ponce	26 mayo 2011	10:40 AM	547674	993126
Atelopus varius	3	Negativo	Marcos Ponce	26 mayo 2011	10:20 AM	546514	994628
Atelopus varius	2	Negativo	Marcos Ponce	26 mayo 2011	10:00 AM	546514	994628
Phyllobates lugubris	AS006	Negativo	Angel Sosa	27 mayo 2011	8:37 AM	546513	994606
Atelopus varius	AS001	Negativo	Angel Sosa	26 mayo 2011	10:04 AM	547674	993126
Atelopus varius	1	Positivo	Marcos Ponce	26 mayo 2011		546576	994489
Atelopus varius	AS005	Inhibido	Angel Sosa	26 mayo 2011	11:00 AM	547677	993098
Atelopus varius	5	Negativo	Marcos Ponce	7 junio 2011	1:11 PM	546467	994977
Rhinella alata	10	Negativo	Marcos Ponce	9 junio 2011	8:30 AM	546656	994433
Atelopus varius	20	Negativo	Marcos Ponce	10 junio 2011	10:15 AM	547733	993021
Atelopus varius	12	Positivo	Marcos Ponce	9 junio 2011	9:35 AM	546591	994489
Incilius coniferus	13	Negativo	Marcos Ponce	9 junio 2011	10:50 AM	546550	994854
Atelopus varius	9	Negativo	Marcos Ponce	8 junio 2011	3:15 PM	547669	993094
Atelopus varius	17	Negativo	Marcos Ponce	9 junio 2011	12:45 PM	546477	994943
Atelopus varius	3	Negativo	Marcos Ponce	7 junio 2011	10:50 AM	546549	994804
Atelopus varius	10	Negativo	Marcos Ponce	9 junio 2011	8:50 AM	546630	994451
Atelopus varius	19	Negativo	Marcos Ponce	10 junio 2011	9:40 AM	547678	993088
Atelopus varius		Negativo	Carlos De La Cruz	10 junio 2011		534508	974703
Teratohyla spinosa	18	Negativo	Marcos Ponce	10 junio 2011	9:15 AM	547691	993138
Atelopus varius		Negativo	Carlos De La Cruz	9 junio 2011		526249	975635
Atelopus varius	7	Negativo	Marcos Ponce	8 junio 2011	2:15 PM	547637	993168
Atelopus varius	4	Positivo	Marcos Ponce	7 junio 2011	12:50 PM	546466	994963
Atelopus varius	15	Negativo	Marcos Ponce	9 junio 2011	11:30 AM	546550	994854
Atelopus varius	21	Negativo	Marcos Ponce	10 junio 2011	10:35 AM	547733	993021
Atelopus varius	16	Negativo	Marcos Ponce	9 junio 2011	12:00 PM	546523	994910
Espadarana prosoblepon	1	Negativo	Marcos Ponce	7 junio 2011	9:50 AM	546656	994433
Espadarana prosoblepon	6	Negativo	Marcos Ponce	7 junio 2011	1:30 PM	546467	994977
Incilius coniferus	1	Negativo	Carlos De La Cruz	9 junio 2011		526249	975635
Atelopus varius	8	Negativo	Marcos Ponce	8 junio 2011	2:40 PM	547691	993138
Pristimantis cruentus	14	Negativo	Marcos Ponce	9 junio 2011	11:10 AM	546550	994854
Atelopus varius	11	Negativo	Marcos Ponce	9 junio 2011	9:15 AM	546602	994458
Atelopus varius	2	Positivo	Marcos Ponce	7 junio 2011	10:50 AM	546549	994804
Atelopus varius	18	Negativo	Marcos Ponce	9 junio 2011	1:35 PM	546454	995027
Atelopus varius	C 13	Negativo	Angel Sosa	28 junio 2011	2:50 PM	520527	973261

Tabla 7. Ocurrencia del Bd en los animales a los cuales se les hizo el raspado y posterior análisis de PCR en tiempo real para el diagnóstico de este patógeno.

Figura 8. Mapa detallando los dos sitios en donde se obtuvieron positivos para el *Bd*.

Algo importante que debemos recalcar, es que esto sólo fue una fase exploratoria de búsqueda del *Bd* en la región y lo único realmente concreto que podemos decir es que en dos sitios está confirmado que hay infección por *Bd*: el área del Rio San Lucas y un punto entre Río Rinconcito y Río Uvero, en la cuenca del Río Caimito. A pesar de que tenemos muestras para otros sitios en donde los resultados hasta ahora son negativos, la cantidad de muestras que tenemos es tan poca, que esto no es indicativo de que ciertamente esos sitios están libres de *Bd*. Para confirmar que un sitio está libre de Bd, los protocolos de muestreo indican que deben hacerse al menos 300 swabs en cada sitio y que ellos salgan negativos para confirmar que dichos sitios están libres en ese momento de *Bd*.

Nuestros resultados en estos momentos sugieren que se debe invertir más esfuerzo de muestreo (de swab) en distintos sitios del área de Donoso, sobre todo si se van a dar reubicación de fauna, principalmente de anfibios, ya que este movimientos de animales de un sitio a otro puede conllevar a que animales infectados sean trasladados a sitio no infectados e introducir este patógeno en dichos sitios.

También sugerimos que se deben implementar la política de desinfectar con agentes como clorox o lysol, las botas y el equipo de campo cada vez que nos movamos de un sitio a otro, para que esta infección no sea trasladada de un sitio a otro por acción humana.

BORRADOR

5. DISCUSIÓN

Los programas de monitoreo poblacional que estiman parámetros de interés a través del tiempo son necesarios e importantes en estudios de manejo de conservación y reubicación de especies de fauna silvestre. Dos de los principales parámetros utilizados usualmente son la abundancia (número absoluto de individuos) y la densidad (número de individuos por unidad de área).

En un inicio, uno de los dilemas más importantes que confrontamos fue, ¿qué especies seleccionar para realizar este estudio poblacional? Uno de los factores que hay que tomar en cuenta al momento de elegir las especies para un estudio de esta clase es que todas las especies no son susceptibles a este tipo de estudio, esto se debe principalmente a que muchas especies tienen densidades bajas, viven ocultas o simplemente son difíciles de ver, lo cual no permite estimar tendencias poblacionales (Lips *et al.*, 2001). Esto sugiere que algunas especies son mejores que otras para estudios poblacionales, se decidió entonces enfrentar algunas características que son favorables para este tipo de estudio, entre todas las EDIs de anfibios presentes en la huella del proyecto Mina de Cobre Panamá y de ese modo se seleccionó a las 2 especies que tenían el mejor potencial para ser muestreadas, *Atelopus varius* y *Dendrobates auratus* (Ver Tabla 1 en la Metodología).

Se aplicó el método de marcado recaptura a dos tipos distintos de muestreos, uno diseñado para animales principalmente terrestres, el método de Parcelas (para cuantificar poblaciones de *Dendrobates auratus*) y el otro para animales que viven en las márgenes de quebradas, el método de Transectos para la Inspección por Encuentro Visual (para cuantificar poblaciones de *Atelopus varius).*

Los estimados obtenidos con las parcelas, indican el tamaño aproximado de la población de *Dendrobates auratus* en toda el área de estudio y de allí podemos inferir el número de individuos de esa especie que ocupa cada km^2 de bosque en el área del Donoso, igualmente podemos inferir los tamaños poblacionales en sitios donde habita *Atelopus varius*, con los estimados obtenidos con los transectos. Estos resultados tienen muchas aplicaciones como monitorear las poblaciones a corto y largo plazo, observar fluctuaciones naturales de las poblaciones y determinar fluctuaciones producto de alteraciones ambientales.

Pero además estos resultados pueden tener una utilidad práctica inmediata para evaluar la efectividad de los rescates de fauna. Los rescates de Fauna son una obligación para los Proyectos cuyos EsIA son de Categoría III, como el Proyecto Mina de Cobre Panamá. La Resolución AG- 0292- 2008 de la ANAM (Gaceta oficial de la República de Panamá, 2008) establece los requisitos para los planes de rescate y reubicación de fauna silvestre; sin embargo dicha Resolución no indica (ni exige) como determinar si los rescates son realmente efectivos.

Los resultados obtenidos en este estudio pueden sentar las bases para servir de control en los rescates y reubicación de Fauna, por ejemplo, ya sabemos el número de *D. auratus*, por cada Km^2 son 4,353 individuos (1,883 y 8,307; rangos promedio mínimo y máximo respectivamente) durante la temporada seca y 4,198 individuos (1,330 y 8,655; rangos promedio mínimo y máximo respectivamente) durante la temporada lluviosa. Si hacemos un rescate de fauna en una cantidad "x" de Km^2 que se van a talar podemos calcular cuantos individuos se deben rescatar (al menos utilizando el valor estimado mínimo).

BORRADOR

De esta forma podemos evaluar si las cantidades de individuos rescatados, concuerda con lo estimado y determinar si los esfuerzos del rescate son aceptables o si hay que hacer ajustes.

Lo mismo podemos hacer para *Atelopus varius*, con los transectos se estimó que la cantidad promedio de individuos de esta especie que habitan a lo largo de 1 Km de quebrada en dónde se conoce la presencia de *Atelopus varius* es de 20 (7 y 41; valor promedio mínimo y máximo) durante la temporada seca y de 19 en la temporada lluviosa (6 y 40; valor promedio mínimo y máximo). Al carecer en este momento de los datos del largo total de quebradas hábiles para *Atelopus varius*, no hemos calculado el total de individuos que habita en la zona de estudio. Sin embargo estos números nos ayudan a estimar que durante un rescate de fauna en un recorrido de 1 km de quebrada en donde habite *Atelopus varius*, deben ser rescatadas aproximadamente entre 19 y 20 individuos (un promedio mínimo de 6 y máximo de 41 individuos).

Una característica interesante que pudimos observar durante los muestreos de las parcelas de *Dendrobates auratus*, es que varias parcelas tuvieron valores de "0" tanto en la temporada lluviosa como en la seca; a pesar de que aparentemente *Dendrobates auratus* es una de las especies más comunes en el área del Donoso, su distribución en todo el bosque no es homogénea, por lo que hay lugares que aunque parecen ser óptimos para esta especie, no son habitados por ella. Esos valores de "0", al parecer, son muy reales, porque para llegar a los sitios de muestreo generalmente había que caminar algunos minutos y a veces horas y en el camino no se vieron ejemplares de esta especie, ni se escucharon los llamados (cantos) característicos de esta especie, lo cual corroboraba que en el sitio no habita la especie. Esto es un punto a considerar en los planes de reubicación de especies durante los rescates de fauna, aunque algunos sitios parezcan óptimos para una especie, no es indicativo de que la especie viva en dicho sitio, hay que tomar las medidas para no liberar especies en sitios donde no se conoce su presencia de forma natural.

Igual sucede con los los transectos de *Atelopus varius*, en un inicio se muestrearon 12 transectos escogidos al azar, en sistemas de quebradas con las características ideales para su presencia, sin embargo ninguno de los transectos mostró la presencia de la especie y debido a eso se hizo 4 nuevos transectos en los pocos sitios en dónde se conoce la presencia de la especie, lo cual también indica que la distribución de esta especie es muy localizada, no es homogénea y es un punto importante a considerar en la escogencia de los posibles sitios de reubicación.

No se conocen trabajos previos que se hayan hecho para estimar tamaño y densidad poblacional de *Dendrobates auratus* y *Atelopus varius*, especies que habitan sistemas tan complejos como los bosques tropicales, por lo que iniciamos con una cantidad de parcelas (24) y transectos (12) que se pensó, luego de consultar a expertos nacionales (Roberto Ibáñez com. per.), podía ser lo mínimo necesario para estimar estructuras poblacionales. Las mejores estimaciones de densidad son aquellas precisas e imparciales, la estimación precisa de la densidad de animales es un requerimiento básico para la investigación ecológica y manejo de la fauna silvestre, la carencia de precisión, reflejada en una alta varianza, error estándar, coeficiente de variación del muestreo, reduce la veracidad de la estimación.

BORRADOR

Desafortunadamente con la metodología utilizada en este estudio hemos obtenido varianzas estadísticas muy altas, tanto en las parcelas de *Dendrobates auratus* como en los transectos de *Atelopus varius*, esto indica que las estimaciones obtenidas tienen muy bajo nivel de confianza respecto a las densidades y tamaños poblacionales reales en la naturaleza y se deben buscar alternativas para tratar de minimizar el valor de las varianzas.

Enfocados en esto realizamos un cálculo (con la fórmula que aparece en el punto 3.6 de la metodología) para determinar el número mínimo de parcelas y transectos necesarios para optimizar estos resultados, utilizando la misma metodología. Sin embargo, si observamos la Tabla 4, las cantidades sugeridas, para optimizar los resultados con la metodología actual, son muy grandes y eso implica altos costos y muchos equipos de trabajo muestreando simultáneamente para poder cumplir con esa cantidad de muestreos anuales.

Otra alternativa para optimizar los resultados (y bajar el valor de la varianza) y de menor costo, es la de aumentar el número de parcelas y transectos si es posible al doble, en vez de 24 parcelas realizar 48 y en vez de 4 transectos hacer 8. Pero más importante también es aumentar el número de días de captura y recaptura a 4 o 5 días (con la metodología actual es de 2 días), eso incrementaría las probabilidades de recapturar más individuos y como estas metodologías se basan en captura-recaptura, al tener más días de muestreo y por lo tanto más recapturas debe bajar la varianza y con eso tendríamos datos más fiables. Es recomendable hacer una prueba a pequeña escala, con unas pocas parcelas y transectos para ver si realmente se consiguen más recapturas al aumentar los días de muestreo y verificar si eso ayuda a bajar la varianza.

Los factores que determinan la actividad diaria de los anfibios, son los factores ambientales principalmente y en un mismo día o en días diferentes estos factores pueden variar grandemente en esta región del Donoso (lluvia, nubosidad, temperatura, humedad, etc.), incidiendo directamente en la presencia o ausencia de un mismo individuo en el mismo sitio, en diferentes periodos de tiempo; Mientras más días de muestreo hagamos, se va a dar más oportunidad a que un individuo sea capturado y recapturado, y esto incidiría beneficiosamente en el robustecimiento del diseño experimental, disminuyendo la varianza.

En cuanto a la estructura poblacional de *Dendrobates auratus*, podemos resaltar que en la Temporada seca se observaron más individuos (106) que durante la época lluviosa (79), no podemos dar una explicación a esto, pero quizás se deba a la mayor disponibilidad de insectos en la hojarasca para la alimentación. En ambas temporadas la mayor parte de los individuos corresponden a adultos (84% en la temporada seca y 80% en la lluviosa). En la zona Norte se registró el mayor número de individuos en ambas temporadas (58 en la época seca y 45 en la lluviosa). Es posible que el mayor porcentaje de adultos en ambas temporadas se deba a que la especie se reproduce por igual en ambas estaciones.

Al igual que el patrón presentado por *Dendrobates auratus*, *Atelopus varius* evidenció también una mayor cantidad de individuos durante la estación seca (28) que durante la estación lluviosa (25), la mayoría fueron observados en el sistema de Quebradas del Río San Lucas, cercano a la desembocadura del Río Coclé del Norte (20 en época seca y 16 en la lluviosa), aparentemente la mayor población de esta

BORRADOR

especie en el área de estudio se encuentre en este sistema de quebradas. Sin embargo este sitio es el más afectado por la presión humana, está muy cerca del Pueblo de San Lucas y las actividades, ganaderas, agrícolas y sobre todo la explotación de oro artesanal de la población, están degradando día a día las quebradas en donde la *Atelopus* habita.

En la época seca la mayor parte de los individuos de *Atelopus varius* observados eran juveniles y subadultos (52%), mientras que en la época lluviosa los adultos ocupaban el mayor porcentaje de individuos (88%). Estos resultados son semejantes a los obtenidos por Toft *et al.* 1990, para otro miembro de la familia Bufonidae (*Rhinella alata*) en la Isla de Barro Colorado, en el Canal de Panamá, ellos encontraron un aumento de juveniles en la época seca debido al reclutamiento de ellos, dentro de la población, luego de emerger de los arroyos en donde fueron puestos durante el fin de la época lluviosa.

Esto nos sugiere que posiblemente el elevado número de adultos en la época lluviosa se debe a que sea el pico de la época reproductiva de esta especie en esta área caribeña, aunque también encontramos parejas en amplexo en la época seca, lo cual implica que no deja de reproducirse durante todo el año. El aumento de juveniles en la época seca posiblemente se debe al reclutamiento de los individuos que fueron depositados, durante el pico reproductivo (temporada lluviosa), en los arroyos y que completaron su desarrollo metamórfico durante los primeros meses de la estación seca.

Como se indicó en la metodología, realizamos un pequeño muestreo de "swabs" o raspados de la piel de anfibios, los cuales posteriormente se analizaron a través de la técnica de PCR en tiempo real para el diagnóstico del patógeno *Bd*, en los anfibios del área. Nuestra atención se enfocó principalmente en las *Atelopus varius*, ya que es una especie que ha sido diezmada en prácticamente todo su ámbito histórico de distribución, por este patógeno, quedando sólo hoy día las poblaciones que se encuentran en las tierras bajas del Caribe, en el Distrito de Donoso. De 45 swab realizados 6 fueron positivos para *Bd* (prevalencia de 13%), la mayoría (5) fueron *Atelopus varius*, todas de la población existente en Río San Lucas. La otra rana infectada fue una *Oophaga vicentei*, encontrada 15 km al oeste del Río San Lucas. Ya en el 2007, se había confirmado la presencia del patógeno en las tierras bajas del Caribe, en Río Changuinola, Provincia de Bocas del Toro, durante unos inventarios biológicos llevados a cabo en dicha región (Andrew Crawford, com. pers.) y recientemente Kilburn, *et al.* (2011), reportan prevalencias altas del patógeno en anfibios (pero también en reptiles) en Cuatro Callitas (a pocos km del Río San Lucas), Palmarazo y la Rica, en el distrito de Donoso.

Estos resultados preliminares nos ponen en alerta, ya que esta especie es una de las principales especies de anfibios a rescatar en el programa de rescate y reubicación de fauna. Como lo menciona Kilburn *et al.* (2011), no sólo los anfibios sirven como vector para este hongo patógeno, sino que dan evidencia que reptiles también; movimientos de animales de un sitio a otro puede conllevar el movimiento de este patógeno de un lugar a otro, sin darnos cuenta durante la reubicación de animales.

Los resultados del diagnóstico de Bd en el área, no son definitivos, por la poca cantidad de muestras, se necesita de un mayor esfuerzo, para determinar los patrones de distribución del Bd en la región, sin embargo aunado al trabajo de Kilburn *et al.* (2011), las evidencias son claras de la presencia del

BORRADOR

patógeno en la región, sin embargo no se ha demostrado que dicha presencia esté asociada en esta región a mortandades masivas de anfibios como ha sucedido en zonas cercanas pero a un mayor gradiente de altura (El Copé y Santa Fé).

6. CONCLUSIONES

- Las varianzas obtenidas son muy altas, por lo que las estimaciones de las densidades y tamaños poblacionales de este estudio tienen muy bajo nivel de confianza respecto a lo que debieran ser los valores reales en la naturaleza.
- Se necesita ajustar el diseño del muestreo para darle mayor confiabilidad a los resultados. Usando la metodología actual, necesitamos elevar enormemente el número de parcelas y transectos para poder robustecer nuestro diseño experimental y para bajar la varianza estadística, esto implica mayores costos y cantidades grandes de personal trabajando al mismo tiempo para poder cumplir con los requisitos anuales de muestreo.
- El número de recapturas tanto para las parcelas como en los transectos, generalmente fue muy baja.
- Los estimados obtenidos con las parcelas, pueden servir para evaluar la efectividad de los rescates de fauna; por ejemplo sabemos que el número de *D. auratus*, por cada Km^2, es de 4,353 individuos (1,883 y 8,307; rangos promedio mí^{n}imo y máximo respectivamente) durante la temporada seca y 4,198 individuos (1,330 y 8,655; rangos promedio mínimo y máximo respectivamente) durante la temporada lluviosa. Si hacemos un rescate de fauna en una cantidad "x" de Km^2 que se van a talar, usando estos datos, podemos calcular cuantos individuos (al menos utilizando el valor estimado mínimo), se deben rescatar (en época seca y lluviosa) y comparar si lo rescatado concuerda con lo estimado.
- Las parcelas para cada Zona, no mostraron diferencia significativas entre ellas para cada temporada, excepto las parcelas de la ZE durante la temporada lluviosa, sus datos eran significativamente diferentes a los de la ZO y ZP, por lo que para *Dendrobates auratus* decidimos no tomar en cuenta la ZE para los cálculos poblacionales y tomar sólo en cuenta las otras tres, las cuales no eran significativamente diferentes a los datos de la Zona de Proyecto (ZP).
- El estimado de números de individuos de *Atelopus varius* que ocupa 1 Km de largo de una quebrada, es de 20 (7 y 41; valor promedio mínimo y máximo) durante la temporada seca y de 19 en la temporada lluviosa (6 y 40; valor promedio mínimo y máximo).Al carecer en este momento de los datos del largo total de quebradas hábiles para *Atelopus varius*, no hemos calculado el total de individuos que habita en la zona de estudio. Sin embargo estos números nos ayudan a estimar que durante un rescate de fauna en un recorrido de 1 km de quebrada en donde habite *Atelopus varius*, deben ser rescatadas aproximadamente entre 19 y 20 individuos (un promedio mínimo de 6 y máximo de 41 individuos). En la época podemos esperar que cerca de la mitad sean juveniles.
- Varias parcelas mostraron valores de 0 individuos de *Dendrobates auratus* tanto en la temporada lluviosa como en la seca; eso nos indica que esta especie en el Donoso no tiene una

distribución homogénea, por lo que hay lugares que aunque aparentemente son óptimos para esta especie, no es habitada por ella.

- La Zona Norte (ZN) presenta mayor estimado poblacional de *Dendrobates auratus*, que en las restantes zonas.
- *Atelopus varius* tiene una distribucíón muy localizada en el Donoso, no todas las quebradas que aparentan llenar las condiciones para que la especie la habite, son habitadas por ella. Por tener una distribución tan discontinua los transectos para *Atelopus varius* no pueden ser escogidos aleatoriamente, deben localizarse en los sitios donde previamente se conoce la presencia de la especie, los cuales no son muchos.
- El patógeno *Bd,* está presente en el área del Donoso, infecta a anfibios del área, sin embargo no tenemos datos que indiquen que está ocasionando quitridiomicosis en ellos. En el área del Río San Lucas, esta infectando a la población más grande de *Atelopsu varius* que conocemos en la zona, sin embargo también conocemos la presencia del patógeno en la cabecera del Río Caimito 15 km al oeste del Río San Lucas.

7. RECOMENDACIONES

- Hacer ajustes en la metodología para disminuir la varianza y robustecer la veracidad y confianza de los datos.
- Recomendamos aumentar al doble el número de parcelas (48) y transectos (8), pero la recomendación más importante es aumentar a 4 o 5 días la cantidad de veces que se debe visitar cada parcela o transecto, si el método se basa en capturas y recapturas aumentando la cantidad de días de muestreo, debe aumentar la cantidad de recapturas y por lo tanto disminuir el valor de la varianza.
- Realizar pruebas experimentales con unas pocas parcelas o transectos para demostrar si el aumento del número de días de muestreo realmente incide en la cantidad de recapturas, y si esto disminuye la varianza.
- Recomendamos utilizar los resultados obtenidos con las parcelas y transectos y compararlos con las cantidades rescatadas actualmente en el programa de rescate y reubicación de fauna. Con los datos que tenemos se puede calcular la cantidad esperada de *Dendrobates auratus* y *Atelopus varius* que se debieran encontrar por superficie de muestreo, esto serviría como un control para el análisis de la efectividad y el ajuste de la metodología actual de rescate de fauna.
- Todas las especies EDIs no son suceptibles a monitorear, pero recomendamos estas mismas dos especies de anfibios (*D. auratus y A.varius*), para futuros proyectos de estimados poblacionales y monitoreos a corto, mediano y largo plazo, por contar ya con una línea base.
- Tomar en cuenta para futuros rescates y reubicación de fauna, que todas las especies no están distribuidas homogéneamente en el área del Donoso, al menos *D. auratus* y *A. varius* no lo están. Por lo que se debe tener cuidado al momento de la liberación, de que esta se haga en sitios donde se ha demostrado la presencia de la especie y no en sitios en dónde por sus características de hábitats se presume que son óptimos para la especie a reubicar.

BORRADOR

- Recomendamos el rescate y manejo *ex situ*, de todas las poblaciones de *Atelopus varius* conocidas dentro de la huella del proyecto, es la especie de vertebrado dentro de la huella del proyecto, más sensible a la extinción, no sólo por la futura pérdida del hábitat en la huella del proyecto, sino porque la especie ya ha sufrido un proceso de declinación por la influencia del *Bd* en todo su ámbito de distribución histórica, restringiéndose en la actualidad sólo al área del Donoso. Y ya conocemos que el *Bd* está ya infectando a las poblaciones de *A. varius*, al menos en Río San Lucas, muy próximo al área del Proyecto.
- Recomendamos un programa formal de diagnóstico del Bd en la zona. Este programa es importante para el programa de rescate y de reubicación de especies, especialmente la reubicación de anfibios. Es importante no llevar individuos sanos a sitios dónde está presente el *Bd* y viceversa.
- Recomendamos que la elección de sitios para cualquier estudio y monitoreo de poblacionales de *Atelopus varius*, no se haga de manera aleatoria ya que la experiencia nos indicó que son muy pocos los sitios en dónde vive esta especie en el área del Donoso. Escoger sitios de manera aleatoria para esta especie podría llevar a que ninguno o en muy pocos de los sitios escog*id*os se encuentre la especie.
- Cuando se hagan rescates de *Atelopus varius* y cualquier otro anfibio, se debe visitar el mismo sitio, más de una vez, los datos demuestran que los animales vistos y marcados un día en un sitio, generalmente no son los mismos que vemos al siguiente día en ese mismo sitio, por lo que un día de trabajo de rescate en un sitio no es suficiente para decir que la mayoría de los individuos de la especie fueron rescatados.

8. BIBLOGRAFÍA

- Autoridad Nacional del Ambiente (ANAM). Resolución No. AG - 0051-2008, por la cual se reglamenta lo relativo a las especies de fauna y flora amenazadas y en peligro de extinción, y se dictan otras disposiciones.
- Autoridad Nacional del Ambiente (ANAM). Resolución AG- 0292- 2008, por la cual se establecen los requisitos para los Planes de Rescate y Reubicación de Fauna Silvestre.
- Chao, A. y Huggins, R. M. 2005. Classical Closed-population Capture-Recapture Models. En: Amstrup, S. C., T. L. McDonals y B. F. J. Manly (Eds.). Handbook of Capture-Recapture Analysis (Pag. 21-35). Princeton University Press.
- CITES. 2012. Appendices I, II and III. Valid from 3 april 2012. http://www.cites.org.
- Clarke, R. D. 1972. The Effect of Toe Clipping on Survival in Fowler's Toad (Bufo woodhousei fowleri). Copeia (1): 182-185.
- Elzinga, C., D. Salzer, J. Willoughby y J. Gibbs. 2001. Monitoring plant and animal populations: a handbook for field biologists. Blackwell Science, London, 360 pp.
- Ferner, J. W. 2007. A review of marking and individual recognition techniques for amphibians and reptiles. Herpetological Circulars 35. Society for the Study of Amphibians and Reptiles, Salt Lake City UT.

BORRADOR

- Golay, N., and H. Durrer. 1994. Inflammation due to toe-clipping in natterjack toads (Bufo clamita). Amphibia-Reptilia 15:81-83.
- IUCN 2012. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.2. http://www.iucnredlist.org. Downloaded on 29 may 2012.
- Kilburn, V. L., R. Ibáñez y D. M. Green3. 2011. Reptiles as potential vectors and hosts of the amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* in Panama**.** Diseases of aquatic organisms. Vol. 97: 127–134.
- Lips, K. R., J. K. Reaser, B. E. Young, and R. Ibáñez. 2001. Monitoreo de Anfibios en América Latina: Manual de Protocolos. Society for the Study of Amphibians and Reptiles, Herpetological Circular No. 30, pp. 115.
- McCarthy, M. A. & K. M Parris. 2004. Clarifying the effect of toe clipping on frogs with Bayesian statistics. Journal of Applied Ecology 41: 780–786.
- MWH y Minera Panamá S. A. 2010. Estudio Biológico Para la identificación de Especies Vegetales y Animales de Interés Especial (Species of Concern - SOC) Fuera del Área de Concesión del Proyecto Cobre Panamá MPSA.
- Phillott, A. D., L. F. Skerratt, K. R. McDonald, F. L. Lemckert, H. B. Hines, J. M. Clarke, R. A. Alford, and R. Speare. 2007. Toe-clipping as an acceptable method of identifying individual anurans in mark recapture studies. Herpetological Review 38:305-308.
- Sokal, R. R. and F. J. Rohlf. 1995. Biometry. W.H. Freeman and Company, New York. 887 pp.
- Toft, C. A., A. S. Rand y M. Clarke. 1990. Dinámica de población y reclutamiento estacional de *Bufo typhonius* y *Colostethus nubicola* (Anura). En: Leigh, E. G., A. Stanley Rand y D. M. Windsor (Editores), Ecología de un Bosque Tropical, Ciclos estacionales y cambios a largo plazo, 548 pp.
- Woodbury, A. W. 1956. Uses of markings animal in ecological studies marking amphibians and reptiles. Ecology, 37:670-674.

BORRADOR

ANEXOS

BORRADOR

Anexo 1. Cronograma de evaluación de parcelas durante la temporada seca y lluviosa

		Temporada Seca			Temporada Lluviosa		
Zona	**Parcela**	**día 1**	**día 2**	**Responsable**	**día 1**	**día 2**	**Responsable**
ZE	ZEP2	18 marzo	20 marzo	Marcos Ponce	26 julio	27 julio	Carlos De La Cruz
ZE	ZEP3	26 marzo	28 marzo	Marcos Ponce	26 julio	27 julio	Abel Batista
ZE	ZEP4	23 marzo	25 marzo	Marcos Ponce	18 julio	19 julio	Abel Batista
ZE	ZEP5	27 marzo	29 marzo	Carlos De La Cruz	18 julio	19 julio	Carlos De La Cruz
ZE	ZEP9	08 febrero	10 febrero	Melquiades Castillo	28 julio	29 julio	Abel Batista
ZE	ZEP12	27 marzo	29 marzo	Marcos Ponce	28 julio	29 julio	Carlos De La Cruz
ZN	ZPP1*	18 marzo	20 marzo	Carlos De La Cruz	20 julio	21 julio	Carlos De La Cruz
ZN	ZNP2	01 mayo	03 mayo	Marcos Ponce	18 junio	19 junio	Marcos Ponce
ZN	ZNP3	06 mayo	08 mayo	Carlos De La Cruz	28 junio	29 junio	Estefany Illueca
ZN	ZNP4	05 mayo	07 mayo	Angel Sosa	24 julio	25 julio	Abel Batista
ZN	ZNP6	17 marzo	19 marzo	Marcos Ponce	30 junio	01 julio	Angel Sosa
ZN	ZNP8	21 marzo	24 marzo	Marcos Ponce	28 junio	29 junio	Carlos De La Cruz
ZN	ZNP11	09 febrero	11 febrero	Melquiades Castillo	30 junio	01 julio	Marcos Ponce
ZO	ZOP3	13 marzo	15 marzo	Marcos Ponce	02 julio	03 julio	Marcos Ponce
ZO	ZOP4	21 marzo	24 marzo	Carlos De La Cruz	30 junio	01 julio	Carlos De La Cruz
ZO	ZOP6	14 marzo	16 marzo	Marcos Ponce	30 junio	01 julio	Estefany Illueca
ZO	ZOP7	03 mayo	05mayo	Carlos De La Cruz	24 julio	25 julio	Carlos De La Cruz
ZO	ZOP10	30 abril	02 mayo	Marcos Ponce	02 julio	03 julio	Angel Sosa
ZO	ZOP11	09 febrero	11 febrero	Marcos Ponce	28 junio	29 junio	Angel Sosa
ZP	ZPP5	17 marzo	19 marzo	Carlos De La Cruz	20 julio	21 julio	Abel Batista
ZP	ZPP6	23 marzo	25 marzo	Carlos De La Cruz	22 julio	23 julio	Abel Batista
ZP	ZPP7	26 marzo	28 marzo	Carlos De La Cruz	02 julio	03 julio	Estefany Illueca
ZP	ZPP8	14 marzo	16 marzo	Carlos De La Cruz	02 julio	03 julio	Carlos De La Cruz
ZP	ZPP12	13 marzo	15 marzo	Carlos De La Cruz	22 julio	23 julio	Carlos De La Cruz

*Aunque la parcela ZPP1 se encuentra en una Zona de Proyecto, geográficamente no pertenece a lo que llamamos Zona de Proyecto en sí, sino a la Zona Norte.

Anexo 2. Cronograma de evaluación de transectos durante la temporada seca y lluviosa

			Temporada Seca			Temporada Lluviosa		
Zona	**Transecto**	**Helipad**	**día 1**	**día 2**	**Responsable**	**día 1**	**día 2**	**Responsable**
ZE	T1	C24	7 junio	9 junio	Marcos Ponce	9 noviembre	12 noviembre	Marcos Ponce
ZE	T2	C24	8 junio	10 junio	Marcos Ponce	8 noviembre	13 noviembre	Marcos Ponce
ZO	T3	C22/ZOP1	7 junio	9 junio	Carlos De La Cruz	12 noviembre	13 noviembre	Abel Batista
ZP	T4	VG13	8 junio	10 junio	Carlos De La Cruz	10 noviembre	11 noviembre	Abel Batista
ZE	T5	SL 02	2 mayo	4 mayo	Angel Sosa	8 noviembre	9 noviembre	Angel Sosa
ZO	T6	BS 05/ZOP9	28 abril	30 abril	Carlos De La Cruz	9 noviembre	10 noviembre	Carlos De La Cruz
ZO	T7	C13/ZOP10	28 abril	30 abril	Marcos Ponce	6 noviembre	14 noviembre	Angel Sosa
ZN	T8	CR10/ZNP7	2 mayo	4 mayo	Carlos De La Cruz	12 noviembre	13 noviembre	Angel Sosa
ZN	T9	T02A/ZNP1	29 abril	1 mayo	Carlos De La Cruz	13 noviembre	14 noviembre	Carlos De La Cruz
ZE	T10	W12B/ZEP4	2 mayo	4 mayo	Carlos De La Cruz	11 noviembre	12 noviembre	Carlos De La Cruz
ZN	T11	CR11/ZNP10	29 abril	1 mayo	Marcos Ponce	8 noviembre	9 noviembre	Abel Batista
ZE	T12	LIM03/ZEP8	2 mayo	4 mayo	Angel Sosa	10 noviembre	11 noviembre	Angel Sosa
ZP	T13	VG06/ZPP7	29 abril	1 mayo	Carlos De La Cruz	14 noviembre	15 noviembre	Abel Batista
ZP	T14	4CO1/ZPP6	29 abril	1 mayo	Angel Sosa	6 noviembre	7 noviembre	Abel Batista
ZP	T15	V17/ZPP9	28 abril	30 abril	Angel Sosa	14 noviembre	15 noviembre	Marcos Ponce
ZO	T16	C22/ZOP1	30 abril		Carlos De La Cruz	10 noviembre	11 noviembre	Marcos Ponce

BORRADOR